

по 2 *трет*-бутильных заместителя оказывали выраженное гемолитическое действие, их HC_{50} составили 23, 25, 59 и 174 мкмоль/л, соответственно. Водорастворимое соединение ВО-03, содержащее 1 *трет*-бутильный заместитель, оказывало слабое гемолитическое действие ($\text{HC}_{50}=1514$ мкмоль/л).

В ЦК экранированные фенолы не оказывали прооксидантное действие в диапазоне концентраций от 10^{-8} до 10^{-4} моль/л (активности ГТр, ГР и концентрации СТ эритроцитов не изменялась). Активность ЛДГ плазмы не отличалась от контрольных значений. Отсутствие гемолитической активности у экранированных фенолов в ЦК может объясняться высокой степенью связывания с белками плазмы крови, а также распределением соединений в большем объеме мембран в ЦК по сравнению с ЭС, что приводит к эффекту разведения.

Таким образом, было установлено, что высоколипофильные экранированные фенолы (соединения BN-07, BS-08, BO-01 и BN-02) обладают выраженной мембранотропностью, значение которой для реализации их фармакологических эффектов требует дальнейшего изучения.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ТИМОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ВЫЗВАННОГО ФАКТОРАМИ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ

Никитина И.А., Стародубцева М.Н., Грицук А.И.

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Вилочковая железа (тимус) играет важную роль в формировании Т-клеточной системы иммунитета и развитии возрастной иммунодепрессии. Тимоциты очень чувствительны к окислительному стрессу, вызываемому действием на организм неблагоприятных факторов окружающей среды, включая ионизирующее излучение (ИИ) [1], ведущим патогенетическим механизмом действия которого является усиление продукции в клетках вторичных мессенджеров – активных форм кислорода и азота (АФК и АФА) [2]. Увеличение экспрессии индуцибельной NO-синтазы при действии ИИ повышает уровень NO^{\bullet} и ONOO^{-} (пероксинитрита), образующегося при взаимодействии NO^{\bullet} с $\text{O}_2^{\bullet -}$. ONOO^{-} , образующийся в стромальных клетках тимуса, принимает участие в процессах морфогенеза и негативной селекции тимоцитов.

Цель исследования – оценить влияние ИИ и пероксинитрита на морфологию тимоцитов крыс методом атомно-силовой микроскопии.

Методы исследования. Опытных животных (белых беспородных крыс) подвергали однократному общему γ -облучению на установке «ИГУР-1», источник ^{137}Cs , доза 1 Гр, мощность дозы 0,92 Гр/мин. Тимоциты выделяли из тимуса крыс и инкубировали с 300 мкМ ONOO⁻ *in vitro*. Исследование морфологии клеток проводили с помощью атомно-силового микроскопа «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь). Полученные данные обрабатывали с помощью программ: SurfaceExplorer («МикроТестМашины», Беларусь) и ImageJ. Определяли: диаметр, высоту (Н), объем (V), площадь свободной поверхности ($S_{\text{нп}}$) тимоцитов опытных и контрольных животных.

Результаты исследования и их обсуждение. Действие пероксинитрита в концентрации 300 мкМ на тимоциты *in vitro*, как и облучение всего организма животного ИИ в дозе 1 Гр (3-е сутки после облучения) приводит к существенному изменению морфологических показателей адгезированных к стеклянным пластинкам тимоцитов. В частности, после обработки изолированных тимоцитов пероксинитритом их объем уменьшается на 37%, высота – на 9%, а площадь свободной, не контактирующей с подложкой, поверхности – почти на 30%.

На 3-сутки после γ -облучения животных в дозе 1 Гр высота клеток уменьшается примерно в три раза, объем – в четыре раза, а площадь свободной поверхности клеток – в два раза. Диаметр тимоцитов остается неизменным как при действии 300 мкМ пероксинитрита, так и при облучении ИИ в дозе 1 Гр на 3-е сутки.

Таблица – Морфологические характеристики тимоцитов крысы (режим сканирования – топография, n=8–13)

Параметры	Пероксинитрит		Ионизирующее излучение	
	Контроль	300 мкМ	Контроль	3-е сутки после облучения
Н, мкм	<u>2.66</u> (2,53-2,67)	<u>2.43*</u> (2,17-2,48)	<u>2.53</u> (2,32-2,66)	<u>0.78**</u> (0,62-1,24)
Диаметр, мкм	<u>6.75</u> (5,88-6,84)	<u>5.60</u> (5,05-6,80)	<u>6.87</u> (6,31-7,63)	<u>6.36</u> (4,92-7,49)
V, мкм ³	<u>59.84</u> (49,52-67,34)	<u>38.02*</u> (32,41-53,20)	<u>59.77</u> (49,85-73,09)	<u>13.03**</u> (8,39-23,90)
$S_{\text{нп}}$, мкм ²	<u>56.43</u> (52,50-60,97)	<u>40.18*</u> (33,24-52,29)	<u>58.10</u> (53, 91-72,80)	<u>35.79**</u> (23,19-,18)*

Примечание: Данные представлены в формате медиана (над чертой), нижний квартиль – верхний квартиль (под чертой); * – Различия статистически значимы в сравнении с соответствующим параметром в контроле, критерий Манна – Уитни ($p < 0,05$)

Заключение. Изменение морфологических параметров тимоцитов крыс спустя 3 суток после острого γ -облучения в дозе 1 Гр имеет сходные черты с изменением, имеющим место после обработки изолированных тимоцитов пероксинитритом в концентрации 300 мкМ: уменьшается объем клеток, их высота и площадь поверхности. Этот факт может указывать на общие механизмы действия ИИ и пероксинитрита на клетки тимуса.

Литература:

1. Кишко, Т.О. Об участии оксида азота и супероксида в апоптозе тимоцитов, вызванном папаверином и нитропруссидом натрия /Т.О. Кишко, С.Г. Шандренко, Н.П. Дмитренко // Современные проблемы токсикологии. – 2001. -№ 1.-С. 26–31.
2. Leach J.K. Ionizing radiation-induced, mitochondria-dependent generation of reactive oxygen/nitrogen. / J.K. Leach // Cancer research. –2001. – №61(10). – P. 3894-901.

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ ЧЕРЕЗ СВЯЗЫВАНИЕ С ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗОЙ

Никотина А.Д.^{1,2}, Лазарев В.Ф.², Гужова И.В.², Маргулис Б.А.²

¹Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

²ФБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Окислительный стресс вовлечен в большое количество патологических состояний человека. Наибольшее разрушительное действие активные формы кислорода оказывают на нервную систему из-за невозможности восстановления погибших нейронов. Окислительный стресс лежит в основе многих нейродегенеративных заболеваний, а так же сопровождается воспалительными процессами и различными травмами мозга. Подробное изучение молекулярных механизмов воздействия активных форм кислорода на клетку позволит найти мишени для терапевтического вмешательства.

По литературным данным фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФДГ) является сенсором окислительного стресса. Данный фермент относится к классу оксидоредуктаз и в своей нативной конформации имеет тетрамерную структуру. Окисление ГАФДГ приводит к денатурации белка до мономеров и димеров, которые впоследствии могут образовывать агрегаты, транслоцироваться в ядро с помощью E3-убиквитинлигазы Siah1 и участвовать в процессе апоптоза. Мы предположили, что использование малых молекул, способных связываться с ГАФДГ, может стабилизировать фермент, предотвратить аг-